

Влияние вариантов генов *AGT*, *TGFB1*, *ESR1* и *VDR* на развитие и течение идиопатических интерстициальных пневмоний и саркоидоза органов дыхания

А.С.Улитина^{1,2}, Л.Н.Новикова¹, Ю.М.Илькович¹, О.П.Баранова¹, Т.В.Макарова³, Е.В.Волкова¹, С.Н.Пчелина^{1,2}, М.М.Илькович¹, М.В.Дубина¹

- 1 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8;
- 2 – Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова»: 188300, Ленинградская обл., Гатчина, мкрн Орлова роша, 1;
- 3 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»: 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9

Информация об авторах

Улитина Анна Сергеевна — к. м. н., старший научный сотрудник отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека отделения молекулярной и радиационной биофизики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова»; тел.: (812) 338-67-23; e-mail: anna.s.ulitina@yandex.ru

Новикова Любовь Николаевна — к. м. н., доцент кафедры пульмонологии факультета последипломного образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-78-61; e-mail: novikoval06@mail.ru

Илькович Юлия Михайловна — к. м. н., доцент кафедры пульмонологии факультета последипломного образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-66-25; e-mail: ilkovich@mail.ru

Баранова Ольга Петровна — к. м. н., старший научный сотрудник Научно-исследовательского института интерстициальных и орфанных заболеваний легких Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-78-27; e-mail: dr_baranova@mail.ru

Макарова Татьяна Владимировна — клинический ординатор отделения специфической профилактики инфекционных заболеваний и иммунодефицитных состояний Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»; тел.: (812) 234-57-59; e-mail: makvtv2009@gmail.com

Волкова Евгения Вячеславовна — младший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-67-23; e-mail: ignatyevaev@gmail.com

Пчелина Софья Николаевна — д. б. н., заведующая лабораторией медицинской генетики Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; заведующая лабораторией молекулярной генетики человека отделения молекулярной и радиационной биофизики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова»; тел.: (812) 338-67-23; e-mail: sopchelina@hotmail.com

Илькович Михаил Михайлович — д. м. н., профессор, директор Научно-исследовательского института интерстициальных и орфанных заболеваний легких, заведующий кафедрой пульмонологии факультета последипломного образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-66-70; e-mail: mih.ilkovich@yandex.ru

Дубина Михаил Владимирович — д. м. н., профессор, академик Российской академии наук, руководитель Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий Научно-исследовательского центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-67-23; e-mail: dubina@spbau.ru

Резюме

Идиопатическая интерстициальная пневмония (ИИП) и саркоидоз органов дыхания (СОД) являются наиболее распространенными интерстициальными заболеваниями легких. Этиология их неизвестна. Актуальность изучения генетических аспектов патогенеза и течения этих заболеваний обусловлена отсутствием эффективных методов лечения и неблагоприятным прогнозом, в особенности у больных с генными ИИП.

Цель. Определение вклада вариантов генов ангиотензиногена (*AGT*), трансформирующего фактора роста- β (*TGFB1*), эстрогенового рецептора- α (*ESR1*) и рецептора витамина D (*VDR*) в развитие и течение ИИП и СОД у жителей Российской Федерации. **Материалы и методы.** В исследовании (дизайн «случай–контроль») принимали участие больные ИИП ($n = 104$), СОД ($n = 111$), а также лица ($n = 113$) контрольной группы. С помощью полимеразной цепной реакции и последующего рестрикционного анализа изучены 7 однонуклеотидных замен: rs5051 в гене *AGT*; rs1800469, rs1800470 и rs1800471 — в гене *TGFB1*; rs2234693 и rs9340799 — в гене *ESR1*; rs731236 — в гене *VDR*. **Результаты.** Выявлены ассоциации вариантов генов *TGFB1* (rs1800469) и *ESR1* (rs9340799) с клиническими исходами ИИП, а также генов *AGT* (rs5051) и *VDR* (rs731236) — со стадиями СОД. С неблагоприятным исходом ИИП (прогрессирование ИИП или смерть) ассоциировались варианты rs1800469 CC гена *TGFB1* ($p = 0,021$; отношение шансов (ОШ) — 2,83 (1,16–6,94)) и rs9340799 X (G) гена *ESR1* ($p = 0,012$; ОШ — 3,18 (1,27–8,00)), а также их сочетание ($p = 0,003$; ОШ — 3,88 (1,55–9,71)). У больных СОД стадии II–IV ассоциировались варианты rs5051 A гена *AGT* ($p = 0,010$; ОШ — 3,22 (1,30–7,98)) и rs731236 t (C) гена *VDR* ($p = 0,046$; ОШ — 2,45 (1,00–6,02)), а также их сочетание ($p = 0,041$; ОШ — 3,31 (1,14–9,60)). **Заключение.** Результаты работы позволяют более адекватно оценить влияние генетических факторов на течение ИИП и СОД.

Ключевые слова: интерстициальные заболевания легких, идиопатическая интерстициальная пневмония, саркоидоз, гены, однонуклеотидный полиморфизм.

Для цитирования: Улитина А.С., Новикова Л.Н., Илькович Ю.М., Баранова О.П., Макарова Т.В., Волкова Е.В., Пчелина С.Н., Илькович М.М., Дубина М.В. Влияние вариантов генов *AGT*, *TGFB1*, *ESR1* и *VDR* на развитие и течение идиопатических интерстициальных пневмоний и саркоидоза органов дыхания. *Пульмонология*. 2017; 27 (3): 346–356. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-3-346-356

Influence of *AGT*, *TGFB1*, *ESR1*, and *VDR* gene variants on development and course of idiopathic interstitial pneumonias and pulmonary sarcoidosis

Anna S. Ulitina^{1,2}, Lubov' N. Novikova¹, Yuliya M. Il'kovich¹, Olga P. Baranova¹, Tat'yana V. Makarova³, Evgeniya V. Volkova¹, Sofiya N. Pchelina^{1,2}, Mikhail M. Il'kovich¹, Mikhail V. Dubina¹

1 – Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; ul. L'va Tolstogo 6 – 8, Saint-Petersburg, 197089, Russia;

2 – B.P.Konstantinov St.-Petersburg Federal Institute of Nuclear Physics, National Research Center “Kurchatov Institute”: mknn Orlova roshcha 1, Gatchina of Leningrad oblast', 188300, Russia;

3 – Federal Research Institute of Paediatric Infections, Federal Medical and Biological Agency: ul. Professora Popova 9, Saint-Petersburg, 197092, Russia

Author information

Anna S. Ulitina, Candidate of Medicine, Senior Researcher at Division of Molecular and Nanobiological Technologies, Research Center, Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; Senior Researcher at Laboratory of Human Molecular Genetics, B.P.Konstantinov St.-Petersburg Federal Institute of Nuclear Physics, National Research Center “Kurchatov Institute”; tel.: (812) 338-67-23; e-mail: anna.s.ulitina@yandex.ru

Lubov' N. Novikova, Candidate of Medicine, Associate Professor, Department of Pulmonology, Faculty of Postgraduate Physician Training, Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-61; e-mail: novikoval06@mail.ru

Yuliya M. Il'kovich, Candidate of Medicine, Associate Professor, Department of Pulmonology, Faculty of Postgraduate Physician Training, Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-66-25; e-mail: ilkovich@mail.ru

Olga P. Baranova, Candidate of Medicine, Senior Researcher, Academician I.P.Pavlov Research Institute of Interstitial and Orphan Diseases, Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-27; e-mail: dr_baranova@mail.ru

Tat'yana V. Makarova, Resident Physician, Department of Specific Prevention of Infectious Diseases and Immunodeficiencies, Federal Research Institute of Paediatric Infections, Federal Medical and Biological Agency; tel.: (812) 234-57-59; e-mail: maktv2009@gmail.com

Evgeniya V. Volkova, Junior Researcher, Division of Molecular and Nanobiological Technologies, Research Center, Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-67-23; e-mail: ignatyevaev@gmail.com

Sofiya N. Pchelina, Doctor of Biology, Head of Laboratory of Medical Genetics, Division of Molecular and Nanobiological Technologies, Research Center, Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; Head of Laboratory of Human Molecular Genetics, B.P.Konstantinov St.-Petersburg Federal Institute of Nuclear Physics, National Research Center “Kurchatov Institute”; tel.: (812) 338-67-23; e-mail: sopchelina@hotmail.com

Mikhail M. Il'kovich, Doctor of Medicine, Professor, Director of Academician I.P.Pavlov Research Institute of Interstitial and Orphan Diseases, Head of Department of Pulmonology, Faculty of Postgraduate Physician Training, Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-66-70; e-mail: mih.il'kovich@yandex.ru

Mikhail V. Dubina, Doctor of Medicine, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of Division of Molecular and Nanobiological Technologies, Research Center, Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-67-23; e-mail: dubina@spbau.ru

Abstract

The aim of the study was to estimate the contribution of angiotensinogen (*AGT*), transforming growth factor beta-1 (*TGFB1*), estrogen receptor alpha (*ESR1*), and vitamin D receptor (*VDR*) gene variants to IIP and PS development and course in residents of Russian Federation. **Methods.** This case-control study involved 104 IIP patients, 111 PS patients, and 113 controls. Seven single nucleotide polymorphisms were investigated using polymerase chain reaction followed by restriction analysis, namely rs5051 in *AGT* gene; rs1800469, rs1800470, and rs1800471 in *TGFB1* gene; rs2234693 and rs9340799 in *ESR1* gene; rs731236 in *VDR* gene. **Results.** We revealed associations of *TGFB1* (rs1800469) and *ESR1* (rs9340799) gene variants with IIP clinical outcomes, as well as *AGT* (rs5051) and *VDR* (rs731236) gene variants with PS stage. Unfavorable IIP outcomes, i.e. IIP progression or death, were associated with variants rs1800469 CC in *TGFB1* gene ($p = 0.021$; odds ratio (OR) = 2.83; 95%CI: 1.16–6.94) and rs9340799 X (G) in *ESR1* gene ($p = 0.012$; OR = 3.18; 95%CI: 1.27–8.00), as well as with their combination ($p = 0.003$; OR = 3.88; 95%CI: 1.55–9.71). PS stages II–IV were associated with variants rs5051 A in *AGT* gene ($p = 0.010$; OR = 3.22; 95%CI: 1.30–7.98) and rs731236 t (C) in *VDR* gene ($p = 0.046$; OR = 2.45; 95%CI: 1.00–6.02), as well as with their combination ($p = 0.041$; OR = 3.31; 95%CI: 1.14–9.60). **Conclusion.** Results of the study contribute to understanding genetic factors that influence IIP and PS courses.

Key words: interstitial lung diseases, idiopathic interstitial pneumonias, sarcoidosis, genes, single nucleotide polymorphism.

For citation: Ulitina A.S., Novikova L.N., Il'kovich Yu.M., Baranova O.P., Makarova T.V., Volkova E.V., Pchelina S.N., Il'kovich M.M., Dubina M.V. Influence of *AGT*, *TGFB1*, *ESR1*, and *VDR* gene variants on development and course of idiopathic interstitial pneumonias and pulmonary sarcoidosis. *Russian Pulmonology*. 2017; 27 (3): 346–356 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-3-346-356

Интерстициальные заболевания легких (ИЗЛ) — это гетерогенная группа заболеваний и патологических состояний, характеризующихся различной степенью паренхиматозного неинфекционного воспаления (по типу альвеолита и / или гранулематоза) с последующим развитием фиброза [1]. Значительная часть ИЗЛ относится к редким болезням (распространенность < 10 на 100 тыс. населения), однако они вносят существенный вклад в структуру смертности: по данным международного исследования *Global Burden of Disease Study*, в 2013 г. среди всех заболеваний по числу непрожитых лет жизни ИЗЛ отведено 40-е место с увеличением этого показателя на 86 % по сравнению с 1990-м годом [2], что, несомненно,

обусловлено тяжестью течения ИЗЛ и отсутствием эффективных методов лечения при большинстве из них. Следует отметить, что оказание специализированной медицинской помощи больным ИЗЛ в Российской Федерации все еще остается неудовлетворительным. Так, из пациентов с ИЗЛ ($n = 4\,596$), которые наблюдались за последние 30 лет в Клинике пульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ошибочный диагноз до госпитализации (соответственно и лечение, способ-

ствующее прогрессированию болезни) установлен у 80 % больных [1], что свидетельствует о недостаточной осведомленности врачей о данной патологии, отсутствии клиничко-рентгенологических и в ряде случаев – о морфологических патогномичных симптомах, низкой информативности рутинных лабораторных тестов.

К наиболее распространенным ИЗЛ относятся идиопатические интерстициальные пневмонии (ИИП), среди которых идиопатический легочный фиброз (ИЛФ) составляет 40–60 %, а также саркоидоз органов дыхания (СОД). Указанные заболевания в значительной мере различаются по клиничко-рентгенологическим, функциональным, морфологическим проявлениям, течению и прогнозу.

Этиология ИИП остается неизвестной. Предполагают, что в патогенезе основную роль играет нарушение регенерации альвеолоцитов после повреждения, их повышенная склонность к апоптозу с последующей миграцией и пролиферацией фибробластов и миофибробластов. В итоге в легких происходит ремоделирование внеклеточного матрикса,

включая деструкцию базальной мембраны, ангиогенез и фиброз. Прогноз при ИИП неблагоприятен: медиана (*Me*) выживаемости при идиопатическом легочном фиброзе составляет 2–3 года с момента установления диагноза [2].

Саркоидоз – полисистемное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся развитием иммунного воспаления с формированием эпителиоидно-клеточных гранул без некроза с исходом в рассасывание или фиброз. Болезнь возникает преимущественно у лиц молодого и среднего возраста (20–40 лет). Отмечены определенные особенности течения заболевания у лиц разных рас: легкое, нередко бессимптомное течение, или острое, с благоприятным прогнозом – у представителей европеоидной расы и более тяжелое течение в сочетании с внелегочными поражениями (кожи, глаз, сердца и т. п.) – у лиц афроамериканской и японской популяций [3, 4]. При саркоидозе органы дыхания вовлекаются в патологический процесс в 95 % случаев.

С большой долей вероятности можно предположить наличие многофакторности в возникновении

Таблица 1
Клиническая характеристика пациентов с идиопатической интерстициальной пневмонией и саркоидозом органов дыхания
Table 1
Clinical characteristics of patients with idiopathic interstitial pneumonia and pulmonary sarcoidosis

Клинический параметр	ИИП	СОД
Число обследованных:	104	111
• мужчины / женщины	23 / 81	36 / 75
Средний возраст, годы	64,3 ± 10,2	48,9 ± 13,2
Длительность заболевания и особенности его начала	Средний возраст дебюта заболевания – 50,8 ± 10,9 года	Средняя длительность наблюдения – 59 (26; 123) мес.
		Установление диагноза – в среднем через 7 (0,5; 18) мес.
		На момент заболевания жалобы имелись у 51,8 % пациентов
	Установление диагноза – в среднем через 24 (10; 36) мес.	Стадия, на которой выявлен СОД, %:
	Длительность наблюдения, мес.:	I – 10,8
	• средняя – 60 (36; 120)	II – 82,0
	• у 49 % – > 60	III – 7,2
Доля пациентов с диагнозом, подтвержденным биопсией, %	39,8	77,5
Распределение пациентов в зависимости от особенностей лечения, %	Монотерапия сГКС – 63,4	сГКС – 68,2
	сГКС и N-ацетилцистеин – 23,7	
	сГКС и азатиоприн – 7,5	Трентал – 45,0
	сГКС, N-ацетилцистеин и азатиоприн – 5,4	Плазмаферез – 69,4
Течение заболевания, %	Хроническое – 68,8	Начало:
	Рецидивирующее – 30,1	• хроническое – 81,0
	Острое – 1,1	• синдром Лефгрена – 14,5
	Благоприятное течение – 20,9	• острое – 4,5
	Стабилизация состояния – 38,4	• благоприятное – 52,3
	Прогрессирование ИИП – 19,8	• стабильное – 13,5
	Летальный исход – 20,9	• прогрессирующее и рецидивирующее – 34,2
Прочие особенности заболевания, %	Варианты ИИП по данным КТ:	Внелегочные поражения саркоидозом – 43,2
	• неспецифическая – 59,3	Поражение:
	• обычная – 37,4	• кожи – 27,1
	• десквамативная – 3,3	• печени – 29,2
		• лимфатических узлов – 14,6

Примечание: ИИП – идиопатическая интерстициальная пневмония; СОД – саркоидоз органов дыхания; сГКС – системные глюкокортикостероиды; КТ – компьютерная томография.

ИИП и СОД, что позволяет отнести их к т. н. многофакторным заболеваниям. Определенное мнение о значимости генетических факторов в развитии ИИП и СОД существует, однако до настоящего времени неизвестно, какие именно генетические варианты вносят в патогенез этих заболеваний наибольший вклад [5, 6].

Гены-кандидаты выбирались на основе литературных данных о функциях их белковых продуктов и распространенности и значимости их однонуклеотидного полиморфизма (ОНП). При этом внимание обращалось в первую очередь на белки широкого спектра действия, участвующие в процессах фиброобразования и иммунного ответа.

Целью исследования явилось определение ассоциации вариантов генов ангиотензиногена (*AGT*), трансформирующего фактора роста- β_1 (*TGFBI*), эстрогенового рецептора- α (*ESR1*) и рецептора витамина D (*VDR*) с развитием и течением ИИП и СОД у населения Российской Федерации.

Материалы и методы

В исследование (дизайн «случай—контроль») включены совершеннолетние жители России, европеои-

ды, не связанные родством. Обследованы также лица контрольной группы без патологии органов дыхания ($n = 113$: 54 мужчины, 59 женщин; средний возраст — $52,7 \pm 15,1$ года), больные ИИП ($n = 104$) и СОД ($n = 111$) (табл. 1). Всем пациентам проводилось комплексное клинично-лабораторное и инструментальное обследование в Научно-исследовательском институте интерстициальных и орфанных заболеваний легких Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

При этом изучены 7 однонуклеотидных замен в 4 генах (табл. 2).

Геномная ДНК выделялась из цельной венозной крови фенол-хлороформным методом. Аллельные варианты выявлялись путем полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом. Структуры праймеров и температуры их отжига представлены в табл. 3. Синтез праймеров выполнен компанией «Синтол» (Россия).

Каждый продукт ПЦР инкубировался с соответствующей эндонуклеазой рестрикции в условиях,

Таблица 2
Исследованные полиморфные участки генома
Table 2
Genome polymorphic loci investigated in this study

Ген	OMIM	Хромосома	Белковый продукт гена	ОНП	Локализация ОНП в гене	Традиционное название ОНП	Замена аминокислоты
<i>AGT</i>	106150	1q42.2	Ангиотензиноген	rs5051	Промотор	Промоторный полиморфизм -6G/A	Нет
<i>TGFBI</i>	190180	19q13.2	$TGF-\beta_1$	rs1800469	Промотор	Промоторный полиморфизм -509 C/T	Нет
				rs1800470	Экзон 1	Полиморфизм в кодоне 10 +869 T/C	Leu10Pro
				rs1800471	Экзон 1	Полиморфизм в кодоне 25 +915 G/C	Arg25Pro
<i>ESR1</i>	133430	6q25.1	Эстрогеновый рецептор- α	rs2234693	Инtron 1	PvuII-полиморфизм C/T	Нет
				rs9340799	Инtron 1	XbaI-полиморфизм A/G	Нет
<i>VDR</i>	601769	12q13.11	Рецептор витамина D	rs731236	Экзон 9	TaqI-полиморфизм T/C	Нет (синонимичный кодон)

Примечание: ОНП – однонуклеотидный полиморфизм; $TGF-\beta_1$ – трансформирующий фактор роста; OMIM – номер гена в каталоге Online Mendelian Inheritance in Man.
Note. OMIM, the gene number in the Online Mendelian Inheritance in Man catalogue.

Таблица 3
Структура и температуры отжига праймеров для полимеразной цепной реакции
Table 3
The structure and the temperature of annealing of primers for polymerase chain reaction

Ген	ОНП	Прямой (F) и обратный (R) праймеры	Температура, °C	Источник
<i>AGT</i>	rs5051	F: 5'-AGCCCACAGCTCAGTTACAT-3'	60,0	[7], с изм.
		R: 5'-TGGCCAAAGTGATGAACCTC-3'		
<i>TGFBI</i>	rs1800469	F: 5'-CACATGGGAGGTGCTCAGTA-3'	60,0	[8], с изм.
		R: 5'-GTCAGGCTGGGAACAAGGTA-3'		
	rs1800470	F: 5'-CCTCCCCACCACACAG-3'	58,5	[8]
	rs1800471	R: 5'-CCGCAGCTTGGACAGG-3'		
<i>ESR1</i>	rs2234693	F: 5'-GATATCCAGGGTTATGTGGCA-3'	60,0	[9]
	rs9340799	R: 5'-AGGTGTTGCCTATTATTAACCTTGA-3'		
<i>VDR</i>	rs731236	F: 5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3'	63,0	[10]
		R: 5'-GCAACTCCTCATGGCTGAGGTCTC-3'		

Примечание: ОНП – однонуклеотидный полиморфизм.

Таблица 4
 Параметры рестрикционного анализа
 Table 4
 Parameters of the restriction analysis

Ген	ОНП	Эндонуклеаза рестрикции	Продукт ПЦР, п. о.	Аллель с сайтом рестрикции	Генотипы и соответствующие им продукты рестрикции, п. о.
<i>AGT</i>	rs5051	MvaI	209	A	GG – 163, 46 GA – 163, 108, 55, 46 AA – 108, 55, 46
<i>TGFB1</i>	rs1800469	Eco81I	160	C	TT – 160 TC – 160, 92, 68 CC – 92, 68
	rs1800470	MspA1I	235	C	TT – 104, 67, 40, 24 TC – 104, 92, 67, 40, 24, 12 CC – 92, 67, 40, 24, 12
	rs1800471	BglI		G	CC – 161, 74 CG – 161, 101, 74, 60 GG – 101, 74, 60
<i>ESR1</i>	rs2234693	PvuII	346	p (T)	PP (CC) – 346 Pp (CT) – 346, 243, 103 pp (TT) – 243, 103
	rs9340799	XbaI		x (A)	XX (GG) – 346 Xx (GA) – 346, 198, 148 xx (AA) – 198, 148
<i>VDR</i>	rs731236	TaqI	745	t (C)	TT (TT) – 745 Tt (TC) – 745, 496, 249 tt (CC) – 496, 249

Примечание: ОНП – однонуклеотидный полиморфизм; п. о. – пары оснований; ПЦР – полимеразная цепная реакция.

рекомендованных ее производителем. Продукты рестрикции подвергались электрофоретическому разделению в полиакриламидном геле. Затем фрагменты ДНК в составе геля окрашивались в водном растворе этидия бромида и визуализировались в ультрафиолете с помощью прибора *Gel Doc XR Plus* (Bio-Rad, США). Параметры рестрикционного анализа указаны в табл. 4, пары оснований обозначены как п. о.

Статистический анализ выполнен с помощью программ *Statistica 7.0* и *Haploview 4.2*. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,050$. Данные, согласующиеся с нормальным распределением по критерию Шапиро–Уилка, представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – среднеквадратичное отклонение; в противном случае данные представлены в виде Me (Q25; Q75), где Q25 и Q75 – квартили. Для сравнения выборок использованы непараметрические методы: критерии χ^2 , Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, а для малых выборок – критерий χ^2 с поправкой Йетса и точный критерий Фишера. Отношение шансов (ОШ) рассчитывались с 95%-ным доверительным интервалом (ДИ) по формуле:

$$ОШ = (a \times d) / (b \times c),$$

где a и b – число больных, имеющих и не имеющих данный генетический вариант; c и d – число лиц контрольной группы, имеющих и не имеющих данный генетический вариант соответственно.

Для анализа неравновесного сцепления определялись следующие показатели: D' – нормализованный коэффициент неравновесного сцепления (95%-ный ДИ), r^2 – квадрат коэффициента корреляции Пирсона, LOD – логарифм ОШ. Неравновесное

сцепление признавалось значимым при $LOD \geq 2$. Гаплотипы, встречающиеся с частотой $> 5\%$, считались основными.

Результаты и обсуждение

Распределение генотипов и аллелей в выборках обследованных представлено в табл. 5. Статистически

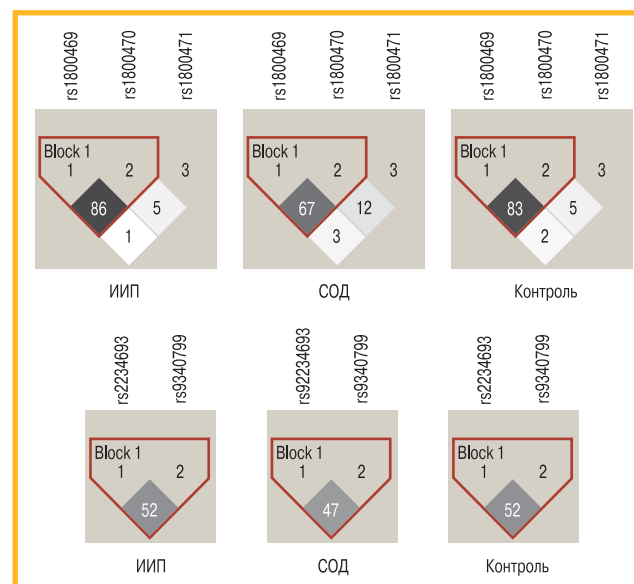


Рисунок. Структура неравновесного сцепления в генах *TGFB1* (rs1800469, rs1800470, rs1800471) и *ESR1* (rs2234693, rs9340799)

Примечание: в ячейках указаны значения r^2 ($\times 100$). Сила сцепления между локусами отображена при помощи цветовой гаммы (чем темнее ячейка, тем сильнее сцепление).

Figure. The structure of linkage disequilibrium in *TGFB1* (rs1800469, rs1800470, rs1800471) and *ESR1* (rs2234693, rs9340799) genes

Note. r^2 multiplied by 100 is given in boxes. Color spectrum reflects the linkage strength between gene loci; more dark color corresponds to more strong linkage.

значимых различий в распределении генетических вариантов между выборками не обнаружено. Отклонение от равновесия Харди–Вайнберга зафиксировано только в контрольной выборке для локуса rs2234693 ($\chi^2 = 8,00$; $df = 2$; $p = 0,018$); для локуса rs9340799 соответствие равновесию оказалось на границе статистической значимости ($\chi^2 = 5,79$; $df = 2$; $p = 0,055$; по данным программы *Haploview* $p = 0,029$).

Проведен анализ неравновесного сцепления для локусов, расположенных на одной хромосоме: rs1800469, rs1800470 и rs1800471 (хромосома 19, ген *TGFB1*), а также rs2234693 и rs9340799 (хромосома 6, ген *ESR1*) (см. рисунок). У гена *TGFB1* локусы rs1800469 и rs1800470 продемонстрировали сильное неравновесное сцепление во всех выборках: ИИП ($D' = 1,00$ (95%-ный ДИ – 0,94–1,00); $r^2 = 0,860$; LOD = 32,52), СОД ($D' = 0,91$ (95%-ный ДИ –

0,80–0,96); $r^2 = 0,670$; LOD = 23,50) и контроля ($D' = 0,98$ (95%-ный ДИ – 0,91–1,00); $r^2 = 0,839$; LOD = 33,11). Локусы гена *ESR1* продемонстрировали неравновесное сцепление в каждой из выборок: ИИП ($D' = 1,0$ (95%-ный ДИ – 0,9–1,0); $r^2 = 0,520$; LOD = 18,69), СОД ($D' = 0,97$ (95%-ный ДИ – 0,85–1,00); $r^2 = 0,474$; LOD = 15,4) и контроля ($D' = 0,87$ (95%-ный ДИ – 0,75–0,94); $r^2 = 0,525$; LOD = 14,42). Для локусов rs1800470 и rs1800471 в группах СОД и контроля выявлено слабое неравновесное сцепление ($D' = 1,00$ (95%-ный ДИ – 0,65–1,00); $r^2 = 0,126$; LOD = 3,98) и ($D' = 1,00$ (95%-ный ДИ – 0,38–1,00); $r^2 = 0,056$; LOD = 2,10) соответственно. Анализ неравновесного сцепления для локусов rs1800469 и rs1800471 оказался неинформативным вследствие низкой частоты минорного аллеля rs1800471 C ($D' = 1$; LOD < 2,00).

Таблица 5
Распределение генотипов и аллелей генов *AGT*, *TGFB1*, *ESR1* и *VDR*
Table 5
AGT, *TGFB1*, *ESR1*, and *VDR* gene and allele distribution

Ген	ОНП	Генотип, аллель	Частота генотипа или аллеля (число носителей)		
			ИИП (n = 104)	СОД (n = 111)	контроль (n = 113)
<i>AGT</i>	rs5051	GG	0,308 (32)	0,369 (41)	0,230 (26)
		GA	0,529 (55)	0,469 (52)	0,487 (55)
		AA	0,163 (17)	0,162 (18)	0,283 (32)
		G	0,572 (87)	0,604 (93)	0,473 (81)
		A	0,428 (72)	0,396 (70)	0,527 (87)
<i>TGFB1</i>	rs1800469	TT	0,106 (11)	0,099 (11)	0,097 (11)
		TC	0,452 (47)	0,441 (49)	0,531 (60)
		CC	0,442 (46)	0,470 (51)	0,372 (42)
		T	0,331 (58)	0,319 (60)	0,362 (71)
		C	0,669 (93)	0,681 (100)	0,638 (102)
<i>TGFB1</i>	rs1800470	TT	0,388 (40)	0,396 (44)	0,339 (38)
		TC	0,505 (52)	0,477 (53)	0,527 (59)
		CC	0,107 (11)	0,127 (14)	0,134 (15)
		T	0,640 (92)	0,635 (97)	0,602 (97)
		C	0,360 (63)	0,365 (67)	0,398 (74)
<i>TGFB1</i>	rs1800471	CC	0,000 (0)	0,000 (0)	0,000 (0)
		CG	0,058 (6)	0,135 (15)	0,071 (8)
		GG	0,942 (98)	0,865 (96)	0,929 (105)
		C	0,029 (6)	0,068 (15)	0,035 (8)
		G	0,971 (104)	0,932 (111)	0,965 (113)
<i>ESR1</i>	rs2234693	PP (CC)	0,231 (24)	0,216 (24)	0,150 (17)
		Pp (CT)	0,481 (50)	0,550 (61)	0,628 (71)
		pp (TT)	0,288 (30)	0,234 (26)	0,222 (25)
		P (C)	0,471 (74)	0,490 (85)	0,464 (88)
		p (T)	0,529 (80)	0,510 (87)	0,536 (96)
<i>ESR1</i>	rs9340799	XX (GG)	0,087 (9)	0,081 (9)	0,088 (10)
		Xx (GA)	0,466 (48)	0,495 (55)	0,575 (65)
		xx (AA)	0,447 (46)	0,424 (47)	0,337 (38)
		X (G)	0,320 (57)	0,328 (64)	0,376 (75)
		x (A)	0,680 (94)	0,672 (102)	0,624 (103)
<i>VDR</i>	rs731236	TT (TT)	0,443 (42)	0,409 (45)	0,420 (47)
		Tt (TC)	0,402 (39)	0,482 (53)	0,482 (54)
		tt (CC)	0,165 (16)	0,109 (12)	0,098 (11)
		T (T)	0,634 (81)	0,650 (98)	0,660 (101)
		t (C)	0,366 (55)	0,350 (65)	0,340 (65)

Примечание: ОНП – однонуклеотидный полиморфизм; ИИП – идиопатическая интерстициальная пневмония; СОД – саркоидоз органов дыхания.

Для локусов, неравновесных по сцеплению, проведен анализ ассоциации гаплотипов с развитием ИИП и СОД. При этом статистически значимых различий в распределении гаплотипов генов *TGFB1* и *ESR1* между выборками не найдено (табл. 6).

Проведен анализ ассоциации изученных генетических вариантов с течением ИИП и СОД. Стратификация каждой группы пациентов на 2 подгруппы проводилась с учетом относительно небольших объемов выборок. При этом в выборке ИИП 1-ю подгруппу составили пациенты с благоприятным исходом заболевания или стабилизацией состояния; 2-ю подгруппу — лица с неблагоприятным исходом ИИП (прогрессирование заболевания или смерть). В выборке ИИП средняя продолжительность наблюдения составила 60 (36; 120) мес., у 49 % пациентов — > 60 мес.

В выборке СОД 1-ю группу составили пациенты с 0 или I стадией заболевания на фоне наблюдения; 2-ю — лица с II–IV стадией СОД на фоне наблюдения. Стадии СОД определялись по результатам рентгенологического исследования органов грудной клетки согласно международным соглашениям и клиническим рекомендациям Российского респираторного общества [6].

Выявлены ассоциации вариантов генов *TGFB1* (rs1800469) и *ESR1* (rs9340799) с клиническими исходами ИИП (табл. 7), а также вариантов генов *AGT* (rs5051) и *VDR* (rs731236) со стадиями СОД (табл. 8).

При этом с неблагоприятным исходом ИИП (прогрессирование ИИП или смерть) ассоциированы варианты rs1800469 CC гена *TGFB1* ($p = 0,021$; ОШ — 2,83 (1,16–6,94)) и rs9340799 X (G) гена *ESR1* ($p = 0,012$; ОШ — 3,18 (1,27–8,00)), а также их сочетание ($p = 0,003$; ОШ — 3,88 (1,55–9,71)). Уменьшало вероятность неблагоприятного исхода ИИП носительство вариантов rs1800469 T гена *TGFB1* ($p = 0,021$; ОШ — 0,35 (0,14–0,86)), XX (AA) гена *ESR1* ($p = 0,012$; ОШ — 0,31 (0,13–0,79)) и их сочетания ($p = 0,003$;

Таблица 6
Распределение гаплотипов генов *TGFB1* (rs1800469, rs1800470, rs1800471) и *ESR1* (rs2234693, rs9340799)
Table 6
TGFB1 (rs1800469, rs1800470, rs1800471) and *ESR1* (rs2234693, rs9340799) gene haplotypes distribution

Ген	Гаплотип	Частота гаплотипа		
		ИИП (n = 104)	СОД (n = 111)	контроль (n = 113)
TGFB1	CTG	0,635	0,615	0,602
	TCG	0,332	0,297	0,358
	CCC	0,028	0,065	0,035
	CCG	0,005	–	–
	TTG	–	0,020	0,005
	TCC	–	0,003	–
ESR1	TA	0,529	0,503	0,509
	CG	0,317	0,323	0,350
	CA	0,154	0,168	0,115
	TG	–	0,006	0,026

Примечание: ИИП – идиопатическая интерстициальная пневмония; СОД – саркоидоз органов дыхания; прочерк – гаплотип не выявлен; красным обозначены основные гаплотипы (частота > 5 %); порядок нуклеотидов в гаплотипе соответствует порядку расположения локусов на хромосоме.

Notes. Dash means no haplotype revealed; main haplotypes are in red and under the grey background (frequency, > 5%); the nucleotide order in the haplotype is done according to the loci order in the chromosome

ОШ — 0,14 (0,04–0,52)), а также сочетания вариантов rs1800469 T гена *TGFB1* и X (A) гена *ESR1* ($p = 0,007$; ОШ — 0,29 (0,12–0,73)).

У больных СОД со стадиями II–IV ассоциировались варианты rs5051 A гена *AGT* ($p = 0,010$; ОШ — 3,22 (1,30–7,98)) и rs731236 t (C) гена *VDR* ($p = 0,046$; ОШ — 2,45 (1,00–6,02)), а также их сочетание ($p = 0,041$; ОШ — 3,31 (1,14–9,60)). Уменьшало вероятность достижения СОД стадий II–IV носительство варианта rs5051 GG гена *AGT* ($p = 0,010$; ОШ — 0,31 (0,13–0,77)), а также следующих сочетаний вариантов: rs5051 GG гена *AGT* и rs731236 TT гена *VDR* ($p = 0,005$; ОШ — 0,20 (0,07–0,59)), rs5051 GG гена

Таблица 7
Ассоциации вариантов генов *TGFB1* и *ESR1* с клиническими исходами идиопатической интерстициальной пневмонии

Table 7
Associations of *TGFB1* and *ESR1* genes with clinical outcomes of idiopathic interstitial pneumonia

ОНП и обусловлен- ный им вариант гена	Частота встречаемости варианта гена (число носителей)		Различия подгрупп			ОШ	95%-ный ДИ
	благоприятный исход или стабилизация ИИП (n = 50)	прогрессирование ИИП или смерть (n = 35)	χ^2	df	p		
rs1800469 в гене TGFB1							
CC	0,320 (16)	0,571 (20)	5,33	1	0,021	2,83	1,16–6,94
T	0,680 (34)	0,429 (15)	5,33	1	0,021	0,35	0,14–0,86
rs934079 в гене ESR1							
xx (AA)	0,560 (28)	0,286 (10)	6,27	1	0,012	0,31	0,13–0,79
X (G)	0,440 (22)	0,714 (25)	6,27	1	0,012	3,18	1,27–8,00
rs1800469 TGFB1 + rs9340799 ESR1							
C + X (G)	0,360 (18)	0,685 (24)	8,74	1	0,003	3,88	1,55–9,71
T + x (A)	0,640 (32)	0,342 (12)	7,28	1	0,007	0,29	0,12–0,73
T + xx (AA)	0,400 (20)	0,085 (3)	8,77	1	0,003	0,14	0,04–0,52

Примечание: ИИП – идиопатическая интерстициальная пневмония; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

Таблица 8
Ассоциации вариантов генов *AGT* и *VDR* со стадиями саркоидоза органов дыхания
Table 8
Associations of *AGT* and *VDR* gene variants with pulmonary sarcoidosis stage

ОНП и обусловленный им вариант гена	Частота встречаемости варианта гена (число носителей)		Различия подгрупп			ОШ	95%-ный ДИ
	0–I стадии СОД <i>n</i> = 26	II–IV стадии СОД <i>n</i> = 84	χ^2	df	<i>p</i>		
rs5051 в гене <i>AGT</i>							
GG	0,576 (15)	0,297 (25)	6,69	1	0,010	0,31	0,13–0,77
A	0,424 (11)	0,703 (59)	6,69	1	0,010	3,22	1,30–7,98
rs731236 в гене <i>VDR</i>							
t (C)	0,423 (11)	0,642 (54)	3,97	1	0,046	2,45	1,00–6,02
rs5051 <i>AGT</i> + rs731236 <i>VDR</i>							
A + t (C)	0,192 (5)	0,440 (37)	4,18	1	0,041	3,31	1,14–9,60
GG + T (T)	0,576 (15)	0,250 (21)	9,64	1	0,002	0,24	0,10–0,61
GG + TT (TT)	0,346 (9)	0,095 (8)	7,74	1	0,005	0,20	0,07–0,59
G + TT (TT)	0,538 (14)	0,273 (23)	6,23	1	0,013	0,32	0,13–0,80

Примечание: ОНП – однонуклеотидный полиморфизм; СОД – саркоидоз органов дыхания; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

AGT и rs731236 T гена *VDR* ($p = 0,002$; ОШ – 0,24 (0,10–0,61)), rs5051 G гена *AGT* и rs731236 TT гена *VDR* ($p = 0,013$; ОШ – 0,32 (0,1–0,80)).

Здоровье человека зависит как от структурных и функциональных особенностей генома, так и от факторов внешней среды. Влияние генов на фенотип в значительной степени обусловлено ОНП. Физиологические и биохимические признаки (в частности, концентрации регуляторных молекул и активность рецепторов) находятся под воздействием комплекса средовых и генетических факторов. Таким образом, ОНП в той или иной степени оказывает влияние на течение любого нормального или патологического процесса в организме человека.

В настоящее время опубликованы результаты нескольких полногеномных исследований (*Genome-wide Association Studies* (GWAS)) по выявлению генетических факторов, ассоциированных с развитием ИЗЛ [11, 12]. Многократно подтверждена ассоциация вариантов генов главного комплекса гистосовместимости (человеческого лейкоцитарного антигена) *HLA* с развитием и течением ИЗЛ [13, 14]. Однако гены *HLA* не исчерпывают перечень генетических детерминант, способных влиять на патогенез и течение ИИП и СОД.

Исследована ассоциация вариантов генов *AGT*, *TGFBI*, *ESR1* и *VDR* с развитием и течением ИИП и СОД. Ассоциации с риском упомянутых заболеваний не выявлено, что согласуется с полученными ранее результатами [15]. Однако в настоящей работе выявлены ассоциации вариантов генов *TGFBI* (rs1800469) и *ESR1* (rs9340799) с клиническими исходами ИИП, а также генов *AGT* (rs5051) и *VDR* (rs731236) со стадиями СОД.

В настоящем исследовании вариант rs1800469 T гена *TGFBI* ассоциирован с благоприятным течением ИИП или стабилизацией состояния. Это согласуется с результатами *C.Arja et al.*, в работе которых вариант rs1800469 T ассоциировался с лучшими показателями легочных функций у больных хронической обструктивной болезнью легких мужчин-

курильщиков [16]. Трансформирующий фактор роста- β_1 (*TGF- β_1*) представляет собой многофункциональный цитокин, регулирующий клеточную пролиферацию и дифференцировку, клеточную адгезию, передачу сигналов между клетками, продукцию и деградацию внеклеточного матрикса. В дыхательной системе *TGF- β_1* играет важную роль в процессах воспаления и ремоделирования [17]. У носителей генотипа rs1800469 TT гена *TGFBI* концентрация *TGF- β_1* в плазме почти в 2 раза выше, чем у носителей генотипа rs1800469 CC [18].

Рассматриваемые в нашей работе ОНП гена *ESR1* расположены в интроне 1, вблизи промотора. Особенностью 1-го интрона по сравнению с остальными интронами является повышенное содержание в нем регуляторных последовательностей. ОНП rs2234693 и rs9340799 могут оказывать влияние на функциональную активность гена *ESR1* двумя способами – через изменение экспрессии вследствие нарушения связывания гена с транскрипционными факторами и через альтернативный сплайсинг. Транскрипция гена *ESR1* может происходить с альтернативных промоторов. В клетках человека выявлены множество транскриптов гена *ESR1*, являющихся результатом альтернативного сплайсинга; при этом на процессинг мРНК могут оказывать влияние как ОНП rs2234693, так и ОНП rs9340799 [19]. Эстрогеновые рецепторы представлены не только в репродуктивных органах, но и во многих других частях организма. В легких *ESR1* экспрессируется в структурных клетках, в т. ч. миофибробластах, и воздействие на эти клетки эстрогенов приводит к снижению пролиферации [20].

Выявлена ассоциация варианта rs9340799 X (G) с неблагоприятным течением ИИП. Интересно отметить, что в работе *G.H.Koppelman et al.*, посвященной бронхиальной астме, в качестве неблагоприятного фактора выявлен, наоборот, вариант rs9340799 AA, ассоциированный со снижением объема форсированного выдоха за 1-ю секунду [20]. Возможно, такое различие результатов является примером нередкой

ситуации, когда один и тот же ОНП в отношении разных заболеваний выступает как благоприятный или неблагоприятный фактор вследствие различий их патогенеза.

В настоящем исследовании выявлена ассоциация варианта rs5051 А гена *AGT* с более тяжелым течением СОД. В доступной литературе публикации, в которых описано влияние ОНП rs5051 гена *AGT* на развитие и течение СОД, отсутствуют. Известно, что ангиотензин является ростовым фактором, который играет важную роль в патогенезе ИИП. Ангиотензин в экспериментальных моделях пневмофиброза проявил себя как проапоптотический и профибротический фактор [21]. В работе *M.Molina-Molina et al.* показано, что вариант rs5051 А гена *AGT* не ассоциирован с предрасположенностью к ИИП, но ассоциирован с более тяжелым течением этого заболевания [15].

Предполагается, что в случае СОД реализуется тот же принцип, как и при ИИП — более функционально активный аллель А гена *AGT* обеспечивает повышенную концентрацию ангиотензиногена и, соответственно, ангиотензина в плазме крови, приводя к повышению давления в легочной артерии и стимуляции апоптоза и фиброза в легких. Однако конкретные механизмы взаимодействия клеток и регуляторных молекул в легочном интерстиции у больных СОД нуждаются в дальнейшем изучении.

Показана ассоциация варианта rs731236 гена *VDR* со стадиями СОД. Ранее при полногеномном исследовании выявлена ассоциация локуса 12q13.3—q14.1, в котором расположен ген *VDR*, с развитием саркоидоза [11]. Предполагается, что белковый продукт аллеля rs731236 t (С) гена *VDR* обладает сниженным сродством к витамину D, что затрудняет взаимодействие витамина D с его рецептором и, соответственно, снижает эффективность подавления гранулематозного воспаления при СОД, способствуя более тяжелому его течению. С такой точкой зрения согласуются результаты исследований данного ОНП и при других хронических воспалительных заболеваниях. Так, описана ассоциация rs731236 с хроническим периодонтитом; при носительстве аллеля t (С) и генотипа tt (СС) повышался риск развития хронического периодонтита в 2,4 и 4,6 раза соответственно [22]. В исследовании *L.Perna et al.* среди носителей варианта rs731236 tt (СС) отмечена более высокая смертность от рака молочной железы [23].

Витамин D является важным модулятором иммунного ответа; не вызывает сомнений нарушение регуляции синтеза витамина D у больных саркоидозом [24]. Моноциты и макрофаги в очагах гранулематозного воспаления при саркоидозе синтезируют активную форму витамина D (1,25-дигидроксивитамин D₃) из прекурсора. Витамин D осуществляет свои эффекты через ядерный рецептор, кодируемый геном *VDR*. Рецепторы витамина D обнаружены в активированных пролиферирующих лимфоцитах [25].

В данном исследовании в выборке ИИП ассоциации с клиническими параметрами выявлены для

вариантов генов *TGFBI* и *ESR1*, а в выборке СОД — для вариантов генов *AGT* и *VDR*. Это свидетельствует о том, что ИИП и СОД, несмотря на ряд общих черт (поражение легочного интерстиция с исходом в пневмофиброз, неясная этиология, хроническое течение, неинфекционность, улучшение состояния на фоне терапии глюкокортикостероидами), имеют существенные различия патогенеза. Интересно отметить, что в данном исследовании ассоциация с течением ИЗЛ продемонстрирована генетическими вариантами, расположенными в разных структурно-функциональных участках генов: промотор (rs5051 гена *AGT*, rs1800469 гена *TGFBI*); 1-й интрон, содержащий регуляторные элементы (rs9340799 гена *ESR1*); экзон (rs731236 гена *VDR*).

Заключение

Результаты данной работы являются вкладом в понимание генетических факторов, влияющих на течение ИИП и СОД и подтверждающих необходимость дальнейших исследований в этом направлении с увеличением объема выборок, анализом большего числа генетических вариантов и применением различных молекулярно-генетических технологий (анализ экспрессии генов, в т. ч. тканеспецифической экспрессии в легочном интерстиции; количественная оценка белковых продуктов генов и т. п.). Новейшие публикации свидетельствуют о том, что даже в пределах одной нозологии различные клинические фенотипы могут иметь в своей основе различные молекулярные механизмы, подверженные влиянию различных генетических детерминант [26]. Следовательно, при планировании дальнейших работ необходимо уделять пристальное внимание критериям формирования выборок для повышения таргетности молекулярно-генетического исследования.

Конфликт интересов

Конфликт интересов авторами не заявлен.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Литература

1. Илькович М.М., ред. Интерстициальные и орфанные заболевания легких. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.
2. Kreuter M., Herth F.J., Wacker M. et al. Exploring Clinical and Epidemiological Characteristics of Interstitial Lung Diseases: Rationale, Aims, and Design of a Nationwide Prospective Registry — The EXCITING-ILD Registry. *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 123876. DOI: 10.1155/2015/123876.
3. Bajwa A., Osmanzada D., Osmanzada S. et al. Epidemiology of uveitis in the mid-Atlantic United States. *Clin. Ophthalmol.* 2015; (9): 889–901. DOI: 10.2147/OPHT. S80972.
4. Mirsaeidi M., Machado R.F., Schraufnagel D. et al. Racial difference in sarcoidosis mortality in the United States. *Chest.* 2015; 147 (2): 438–449. DOI: 10.1378/chest.14-1120.
5. Илькович М.М., Новикова Л.Н., Сперанская А.А. Идиопатический фиброзирующий альвеолит: совре-

- менные представления. *Consilium Medicum*. 2009; (11): 24–29.
6. Чучалин А.Г., Визель А.А., Илькович М.М. и др. Диагностика и лечение саркоидоза: резюме федеральных согласительных клинических рекомендаций. Часть I. Классификация, этиопатогенез, клиника. *Вестник современной клинической медицины*. 2014; 7 (4): 62–70.
 7. Inoue I., Nakajima T., Williams C.S. et al. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J. Clin. Invest.* 1997; 99 (7): 1786–1797. DOI: 10.1172/JCI119343.
 8. Shu X.O., Gao Y.T., Cai Q. et al. Genetic polymorphisms in the TGF-beta 1 gene and breast cancer survival: a report from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Res.* 2004; 64 (3): 836–839.
 9. van Meurs J.B., Schuit S.C., Weel A.E. et al. Association of 5' estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density, vertebral bone area and fracture risk. *Hum. Mol. Genet.* 2003; 12 (14): 1745–1754.
 10. Horst-Sikorska W., Kalak R., Wawrzyniak A. et al. Association analysis of the polymorphisms of the VDR gene with bone mineral density and the occurrence of fractures. *J. Bone Miner. Metab.* 2007; 25 (5): 310–319. DOI: 10.1007/s00774-007-0769-5.
 11. Hofmann S., Fischer A., Nothnagel M. et al. Genome-wide association analysis reveals 12q13.3-q14.1 as new risk locus for sarcoidosis. *Eur. Respir. J.* 2013; 41 (4): 888–900. DOI:10.1183/09031936.00033812.
 12. Fingerlin T.E., Zhang W., Yang I.V. et al. Genome-wide imputation study identifies novel HLA locus for pulmonary fibrosis and potential role for auto-immunity in fibrotic idiopathic interstitial pneumonia. *BMC Genet.* 2016; 17 (1): 74. DOI: 10.1186/s12863-016-0377-2.
 13. Fischer A., Grunewald J., Spagnolo P. et al. Genetics of sarcoidosis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 35 (3): 296–306. DOI: 10.1055/s-0034-1376860.
 14. Zhou W., Wang Y. Candidate genes of idiopathic pulmonary fibrosis: current evidence and research. *Appl. Clin. Genet.* 2016; (9): 5–13. DOI: 10.2147/TACG.S61999.
 15. Molina-Molina M., Xaubet A., Li X. et al. Angiotensinogen gene G-6A polymorphism influences idiopathic pulmonary fibrosis disease progression. *Eur. Respir. J.* 2008; 32 (4): 1004–1008. DOI: 10.1183/09031936.00015808.
 16. Arja C., Ravuri R.R., Pulamaghatta V.N. et al. Genetic determinants of chronic obstructive pulmonary disease in South Indian male smokers. *PLoS One*. 2014; 9 (2): e89957. DOI: 10.1371/journal.pone.0089957.
 17. Yang Y.C., Zhang N., Van Crombruggen K. et al. Transforming growth factor-beta1 in inflammatory airway disease: a key for understanding inflammation and remodeling. *Allergy*. 2012; 67 (10): 1193–1202. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2012.02880.x.
 18. Shah R., Hurley C.K., Posch P.E. A molecular mechanism for the differential regulation of TGF-beta1 expression due to the common SNP -509C-T (c. -1347C > T). *Hum. Genet.* 2006; 120 (4): 461–469. DOI: 10.1007/s00439-006-0194-1.
 19. Jakimiuk A., Nowicka M., Bogusiewicz M. et al. Prevalence of estrogen receptor alpha PvuII and XbaI polymorphism in population of Polish postmenopausal women. *Folia. Histochem. Cytobiol.* 2007; 45 (4): 331–338.
 20. Koppelman G.H., Sayers I. Evidence of a genetic contribution to lung function decline in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128 (3): 479–484. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.05.036.
 21. Uhal B.D., Kim J.K., Li X., Molina-Molina M. Angiotensin-TGF-beta 1 crosstalk in human idiopathic pulmonary fibrosis: autocrine mechanisms in myofibroblasts and macrophages. *Curr. Pharm. Des.* 2007; 13 (12): 1247–1256.
 22. Daing A., Singh S.V., Saimbi C.S. et al. Single nucleotide polymorphisms at interleukin (IL)-1β + 3954 and vitamin D receptor (VDR) TaqI in chronic periodontitis patients: A pilot study in North Indian population. *J. Int. Clin. Dent. Res. Organ.* 2015; 7: 18–23. DOI: 10.4103/2231-0754.153490.
 23. Perna L., Butterbach K., Haug U. et al. Vitamin D receptor genotype rs731236 (TaqI) and breast cancer prognosis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2013; 22 (3): 437–442. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0970-T.
 24. Barna B.P., Culver D.A., Kanchwala A. et al. Alveolar macrophage cathelicidin deficiency in severe sarcoidosis. *J. Innate Immun.* 2012; 4 (5–6): 569–578. DOI: 10.1159/000339149.
 25. Hewison M. Vitamin D and the intracrinology of innate immunity. *Mol. Cell Endocrinol.* 2010; 321 (2): 103–111. DOI: 10.1016/j.mce.2010.02.013.
 26. Rivera N.V., Ronninger M., Shchetynsky K. et al. High-density genetic mapping identifies new susceptibility variants in sarcoidosis phenotypes and shows genomic-driven phenotypic differences. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 193 (9): 1008–1022. DOI: 10.1164/rccm.201507-1372OC.

Поступила 16.01.17

References

1. Il'kovich M.M., ed. Interstitial and orphan lung diseases. Moscow: GEOTAR-Media; 2016 (in Russian).
2. Kreuter M., Herth F.J., Wacker M. et al. Exploring Clinical and Epidemiological Characteristics of Interstitial Lung Diseases: Rationale, Aims, and Design of a Nationwide Prospective Registry – The EXCITING-ILD Registry. *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 123876. DOI: 10.1155/2015/123876.
3. Bajwa A., Osmanzada D., Osmanzada S. et al. Epidemiology of uveitis in the mid-Atlantic United States. *Clin. Ophthalmol.* 2015; (9): 889–901. DOI: 10.2147/OPHTH.S80972.
4. Mirsaeidi M., Machado R.F., Schraufnagel D. et al. Racial difference in sarcoidosis mortality in the United States. *Chest*. 2015; 147 (2): 438–449. DOI: 10.1378/chest.14-1120.
5. Il'kovich M.M., Novikova L.N., Speranskaya A.A. Idiopathic pulmonary fibrosis: current issues. *Consilium Medicum*. 2009; (11): 24–29 (in Russian).
6. Chuchalin A.G., Vize' A.A., Il'kovich M.M. et al. Diagnosis and treatment of sarcoidosis: summary of Federal Consensus Guidelines. Part 1. Classification, etiology, pathogenesis, and clinical course. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny*. 2014; 7 (4): 62–70 (in Russian).
7. Inoue I., Nakajima T., Williams C.S. et al. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J. Clin. Invest.* 1997; 99 (7): 1786–1797. DOI: 10.1172/JCI119343.
8. Shu X.O., Gao Y.T., Cai Q. et al. Genetic polymorphisms in the TGF-beta 1 gene and breast cancer survival: a report from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Res.* 2004; 64 (3): 836–839.
9. van Meurs J.B., Schuit S.C., Weel A.E. et al. Association of 5' estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone

- mineral density, vertebral bone area and fracture risk. *Hum. Mol. Genet.* 2003; 12 (14): 1745–1754.
10. Horst-Sikorska W., Kalak R., Wawrzyniak A. et al. Association analysis of the polymorphisms of the VDR gene with bone mineral density and the occurrence of fractures. *J. Bone Miner. Metab.* 2007; 25 (5): 310–319. DOI: 10.1007/s00774-007-0769-5.
11. Hofmann S., Fischer A., Nothnagel M. et al. Genome-wide association analysis reveals 12q13.3-q14.1 as new risk locus for sarcoidosis. *Eur. Respir. J.* 2013; 41 (4): 888–900. DOI:10.1183/09031936.00033812.
12. Fingerlin T.E., Zhang W., Yang I.V. et al. Genome-wide imputation study identifies novel HLA locus for pulmonary fibrosis and potential role for auto-immunity in fibrotic idiopathic interstitial pneumonia. *BMC Genet.* 2016; 17 (1): 74. DOI: 10.1186/s12863-016-0377-2.
13. Fischer A., Grunewald J., Spagnolo P. et al. Genetics of sarcoidosis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 35 (3): 296–306. DOI: 10.1055/s-0034-1376860.
14. Zhou W., Wang Y. Candidate genes of idiopathic pulmonary fibrosis: current evidence and research. *Appl. Clin. Genet.* 2016; (9): 5–13. DOI: 10.2147/TACG.S61999.
15. Molina-Molina M., Xaubet A., Li X. et al. Angiotensinogen gene G-6A polymorphism influences idiopathic pulmonary fibrosis disease progression. *Eur. Respir. J.* 2008; 32 (4): 1004–1008. DOI: 10.1183/09031936.00015808.
16. Arja C., Ravuri R.R., Pulamaghatta V.N. et al. Genetic determinants of chronic obstructive pulmonary disease in South Indian male smokers. *PLoS One.* 2014; 9 (2): e89957. DOI: 10.1371/journal.pone.0089957.
17. Yang Y.C., Zhang N., Van Crombruggen K. et al. Transforming growth factor-beta1 in inflammatory airway disease: a key for understanding inflammation and remodeling. *Allergy.* 2012; 67 (10): 1193–1202. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2012.02880.x.
18. Shah R., Hurley C.K., Posch P.E. A molecular mechanism for the differential regulation of TGF-beta1 expression due to the common SNP -509C-T (c. -1347C > T). *Hum. Genet.* 2006; 120 (4): 461–469. DOI: 10.1007/s00439-006-0194-1.
19. Jakimiuk A., Nowicka M., Bogusiewicz M. et al. Prevalence of estrogen receptor alpha PvuII and XbaI polymorphism in population of Polish postmenopausal women. *Folia. Histochem. Cytobiol.* 2007; 45 (4): 331–338.
20. Koppelman G.H., Sayers I. Evidence of a genetic contribution to lung function decline in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128 (3): 479–484. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.05.036.
21. Uhal B.D., Kim J.K., Li X., Molina-Molina M. Angiotensin-TGF-beta 1 crosstalk in human idiopathic pulmonary fibrosis: autocrine mechanisms in myofibroblasts and macrophages. *Curr. Pharm. Des.* 2007; 13 (12): 1247–1256.
22. Daing A., Singh S.V., Saimbi C.S. et al. Single nucleotide polymorphisms at interleukin (IL)-1β + 3954 and vitamin D receptor (VDR) TaqI in chronic periodontitis patients: A pilot study in North Indian population. *J. Int. Clin. Dent. Res. Organ.* 2015; 7: 18–23. DOI: 10.4103/2231-0754.153490.
23. Perna L., Butterbach K., Haug U. et al. Vitamin D receptor genotype rs731236 (TaqI) and breast cancer prognosis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2013; 22 (3): 437–442. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0970-T.
24. Barna B.P., Culver D.A., Kanchwala A. et al. Alveolar macrophage cathelicidin deficiency in severe sarcoidosis. *J. Innate Immun.* 2012; 4 (5–6): 569–578. DOI: 10.1159/000339149.
25. Hewison M. Vitamin D and the intracrinology of innate immunity. *Mol. Cell Endocrinol.* 2010; 321 (2): 103–111. DOI: 10.1016/j.mce.2010.02.013.
26. Rivera N.V., Ronninger M., Shchetynsky K. et al. High-density genetic mapping identifies new susceptibility variants in sarcoidosis phenotypes and shows genomic-driven phenotypic differences. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 193 (9): 1008–1022. DOI: 10.1164/rccm.201507-1372OC.

Received January 16, 2017